

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1129.2—2002

---

### 牛病毒性腹泻/粘膜病病毒分离 操作规程

Protocol of virus isolation for bovine  
viral diarrhea/mucosal disease

2002-08-02 发布

2003-01-01 实施

---

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 前 言

本标准中有关病毒分离和鉴定方法是参考美国、澳大利亚实验室的检测规程和总结我国在这一领域多年研究和实践经验的基础上制定。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准负责起草单位：中华人民共和国云南出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：周晓黎、花群义、徐自忠、徐维加。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

## 牛病毒性腹泻/粘膜病病毒分离操作规程

### 1 范围

本标准规定了牛病毒性腹泻/粘膜病病毒分离和鉴定方法。

本标准适用于动物感染牛病毒性腹泻/粘膜病病毒分离和鉴定。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

**CPE** 致细胞病变作用。

**TCID<sub>50</sub>** 半数组织培养感染量。

**BVD/MD** 牛病毒性腹泻/粘膜病。

**SPF** 无特定病原体。

### 4 原理

动物感染 BVD 病毒并产生抗体后,在较长一段时间里病牛的许多组织中有病毒的存在,急性病例具有持续的病毒血症,所以血液是最好的病毒分离材料,采取凝固的血块,经冻融几次后作为接种物。尸体剖检时则采取肠系膜淋巴结或脾脏,也可应用骨髓经常规处理后作为接种物。发病较久或怀疑有抗体存在时,用上述病料分离病毒,可能会受到干扰,此时可采抗凝血,分离白细胞作为接种物更为理想,检查局部感染时,可用棉拭子采取局部的分泌物或排泄物。

各种牛源细胞均可用于病毒分离,包括牛肾和胎牛肺原代细胞或继代细胞以及犊牛睾丸细胞。犊牛原代睾丸细胞常可显示较好的细胞病变。

分离株若引起细胞病变,则应进一步用抗 BVDV 的免疫血清进行中和试验鉴定。若无细胞病变,则用免疫荧光抗体试验(FA),免疫过氧化物酶试验、中和试验等方法进行鉴定。

病料接种于敏感细胞后至少应传两代以上,方可进行鉴定。

### 5 试剂和材料

5.1 水:本标准所用水应符合 GB/T 6682 中二级水的规格。

5.2 病毒:BVD 病毒 Oregon C24V。

5.3 血清:BVD 标准阳性血清、阴性血清。

5.4 被检样品:凝固的血块、肠系膜淋巴结或脾脏、骨髓、白细胞、分泌物或排泄物,经研磨冻融几次后作为接种物。若需要长途运输,应将病料置入含有高浓度抗生素的运输液中(每毫升 5 000 IU 青霉素,5 000 μg 链霉素和 10 μg 两性霉素 B)。

5.5 细胞:试验所用的细胞为原代或次代犊牛肾细胞或睾丸细胞,一般不超过四代,按常规胰酶消化方